



21 Aktenzeichen: 198 18 964.8
22 Anmeldetag: 28. 4. 98
43 Offenlegungstag: 4. 11. 99

71 Anmelder:
Arzneimittelwerk Dresden GmbH, 01445 Radebeul,
DE

72 Erfinder:
Höfgen, Norbert, Dr., 01458 Medingen, DE;
Egerland, Ute, 01445 Radebeul, DE; Poppe,
Hildegard, Dr., 01109 Dresden, DE; Marx,
Degenhard, Dr., 01796 Pirna, DE; Szelenyi, Stefan,
Prof., 90571 Schwaig, DE; Kronbach, Thomas, Dr.,
01445 Radebeul, DE; Polymeropoulos, Emmanuel,
Dr., 60325 Frankfurt, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
zu ziehende Druckschriften:

DE 196 36 150 A1
DE 195 11 916 A1
US 54 24 329
EP 07 73 024 A2
WO 98 08 818 A1
WO 98 02 151 A2
WO 97 48 697 A1
WO 95 24 408 A1
WO 95 14 667 A1
WO 94 12 461 A1

The Merck Index, MERCK & Co., Inc., Rahway, N.J.,
U.S.A., 1989, S.786;

Chemical Abstracts:
Vol.114, 1991, Ref. 240174a;
Vol.121, 1994, Ref. 81303t;
Vol.127, 1997, Ref. 108841e;
Vol.127, 1997, Ref. 219990x;
Vol.117, 1992, Ref. 225926r;
Vol.121, 1994, Ref. 2861x;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

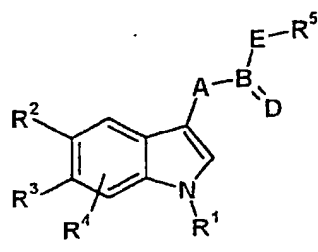
54 Neue Hydroxyindole, deren Verwendung als Inhibitoren der Phosphodiesterase 4 und Verfahren zu deren
Herstellung

57 Die Erfindung betrifft neue Hydroxyindole, deren Ver-
wendung als Inhibitoren der Phosphodiesterase 4 und
Verfahren zu deren Herstellung.

Beschreibung

Technisches Gebiet

Die Erfindung betrifft substituierte Hydroxyindole der allgemeinen Formel 1,



1

Verfahren zu deren Herstellung, pharmazeutische Zubereitungen, die diese Verbindungen enthalten sowie die pharmazeutische Verwendung dieser Verbindungen, die Inhibitoren der Phosphodiesterase 4 sind, als Wirkstoffe zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Hemmung der Phosphodiesterase 4-Aktivität in immunkompetenten Zellen (z. B. Makrophagen und Lymphozyten) durch die erfindungsgemäßen Verbindungen zu beeinflussen sind.

Stand der Technik

Die Aktivierung von Rezeptoren der Zellmembran durch Transmitter führt zur Aktivierung des "second messenger"-Systems. Die Adenylatcyclase synthetisiert aus AMP und GMP das wirksame cyclische AMP (cAMP) bzw. cyclische GMP (cGMP). Diese führen z. B. in glatten Muskelzellen zur Erschlaffung bzw. in Entzündungszellen zur Hemmung der Mediatorfreisetzung bzw. -synthese. Der Abbau der "second messenger" cAMP und cGMP erfolgt durch die Phosphodiesterasen (PDE). Bisher sind 7 Familien von PDE-Enzymen (PDE1-7) bekannt, die sich durch ihre Substratspezifität (cAMP, cGMP oder beides) und die Abhängigkeit von anderen Substraten (z. B. Calmodulin) unterscheiden. Diese Isoenzyme besitzen unterschiedliche Funktionen im Körper und sind in den einzelnen Zellarten unterschiedlich ausgeprägt (Beavo J. A., Conti M. and Heasley R. J. Multiple cyclic nucleotide phosphodiesterases. Mol. Pharmacol. 1994, 46: 399-405; Hall I. P. Isoenzyme selective phosphodiesterase inhibitors: potential clinical uses, Br. J. clin. Pharmacol. 1993, 35: 1-7). Durch Hemmung der verschiedenen PDE Isoenzymentypen kommt es zu einer Kumulation von cAMP bzw. cGMP in den Zellen, was therapeutisch genutzt werden kann (Torphy T. J., Livi G. P., Christensen S. B., Novel Phosphodiesterase Inhibitors for the Therapy of Asthma, Drug News and Perspectives 1993, 6: 203-214).

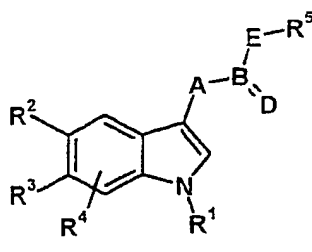
In den für allergische Entzündungen wichtigen Zellen (Lymphozyten, Mastzellen, eosinophile Granulozyten, Makrophagen) ist das vorherrschende PDE-Isoenzym der Typ 4 (Torphy, J. T. and Undem, B. J. Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. Thorax 1991, 46: 512-523). Die Hemmung der PDE 4 durch geeignete Inhibitoren wird daher als wichtiger Ansatz zur Therapie einer Vielzahl allergisch induzierter Erkrankungen betrachtet (Schmidt Ch., Dent G. Rabe K., Phosphodiesterase Inhibitors, Academic Press London 1996). Eine wichtige Eigenschaft von Phosphodiesterase 4 Inhibitoren ist die Hemmung der Freisetzung von Tumornekrosefaktor α (TNF α) aus Entzündungszellen. TNF α ist ein bedeutendes pro-inflammatorisches Cytokin, das eine Vielzahl biologischer Prozesse beeinflusst. Freigesetzt wird TNF α zum Beispiel aus aktivierten Makrophagen, aktivierten T-Lymphozyten, Mastzellen, Basophilen, Fibroblasten, Endothelzellen und Astrozyten im Gehirn. Es wirkt selbst aktivierend auf Neutrophile, Eosinophile, Fibroblasten und Endothelzellen, wodurch verschiedene gewebeerstörende Mediatoren freigesetzt werden. In Monozyten, Makrophagen und T-Lymphozyten bewirkt TNF α die vermehrte Produktion von weiteren proinflammatorischen Cytokinen wie GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) oder Interleukin-8. Auf Grund seiner entzündungsfördernden und katabolischen Wirkung spielt TNF α bei einer Vielzahl von Erkrankungen, wie Entzündungen der Atemwege, Entzündungen der Gelenke, endotoxischer Schock, Gewebsabstoßungen, AIDS und zahlreichen anderen immunologischen Erkrankungen eine zentrale Rolle. Für die Therapie solcher mit TNF α verbundener Erkrankungen sind Inhibitoren der Phosphodiesterase 4 somit ebenfalls geeignet.

Es sind bereits verschiedene PDE 4 Inhibitoren bekannt. Vorrangig handelt es sich dabei um Xanthin-Derivate, Rolipram-Analoga oder Nitraquazon-Abkömmlinge (Übersicht in: Karlsson J.-A., Aldos D., Phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of asthma, Exp. Opin. Ther. Patents 1997, 7: 989-1003). Keine dieser Verbindungen konnte bisher bis zur klinischen Anwendung gebracht werden. Es mußte festgestellt werden, daß die bekannten PDE 4 Inhibitoren auch verschiedene Nebenwirkungen wie Nausea und Erbrechen besitzen, die bisher nicht ausreichend zurückgedrängt werden konnten. Deshalb ist die Entdeckung neuer PDE 4 Inhibitoren mit besserer therapeutischer Breite erforderlich.

Obwohl Indole bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe für verschiedene Indikationen seit vielen Jahren eine wichtige Rolle spielen, sind Hydroxyindole als Inhibitoren der PDE 4 bisher völlig unbekannt.

Beschreibung der Erfindung

Die Erfindung betrifft substituierte Hydroxyindole der allgemeinen Formel 1



1

worin

R¹, R⁵ für -C₁...₁₂-Alkyl, geradkettig oder verzweigt, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -O(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₃H, -SO₂R⁶, -OSO₂C₁...₆Alkyl, -OSO₂C₆...₁₄Aryl, -(CS)R⁶, -COOH, -(CO)R⁶, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die C₆...₁₄Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R⁴ substituiert sein können,

-C₁...₁₂-Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -C(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₃H, -SO₂R⁶, -OSO₂C₁...₆Alkyl, -OSO₂C₆...₁₄Aryl, -(CS)R⁶, -COOH, -(CO)R⁶, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die C₆...₁₄Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R⁴ substituiert sein können,

-mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -O(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₃H, -SO₂R⁶, -OSO₂C₁...₆Alkyl, -OSO₂C₆...₁₄Aryl, -(CS)R⁶, -COOH, -(CO)R⁶, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die C₆...₁₄Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R⁴ substituiert sein können,

-mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -O(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₃H, -SO₂R⁶, -OSO₂C₁...₆Alkyl, -OSO₂C₆...₁₄Aryl, -(CS)R⁶, -COOH, -(CO)R⁶, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die C₆...₁₄Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R⁴ substituiert sein können,

-carbo- oder heterocyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Spirocyclen mit 3...10 Ringgliedern, wobei heterocyclische Systeme 1...6 Heteroatome enthalten, die vorzugsweise N, O und S sind, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -O(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₃H, -SO₂R⁶, -OSO₂C₁...₆Alkyl, -OSO₂C₆...₁₄Aryl, -(CS)R⁶, -COOH, -(CO)R⁶, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die C₆...₁₄Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R⁴ substituiert sein können,

steht, wobei R¹ und R⁵ gleich oder verschieden sein können

R², R³ können Wasserstoff oder -OH sein, wobei mindestens einer von beiden Substituenten -OH sein muß;

R⁴ steht für -H, -OH, -SH, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -NHCOR⁶, -NO₂, -CN, -COOH, -(CO)R⁶, -(CS)R⁶, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -O(CO)R⁶, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -SOR⁶, -SO₂R⁶.

R⁶ kann -H, -NH₂, -NHC₁...₆-Alkyl, -N(C₁...₆-Alkyl)₂, -NHC₆...₁₄Aryl, -N(C₆...₁₄Aryl)₂, -N(C₁...₆Alkyl)(C₆...₁₄Aryl), -O-C₁...₆-Alkyl, -O-C₆...₁₄-Aryl, -S-C₁...₆-Alkyl, -S-C₆...₁₄Aryl, -C₁...₁₂-Alkyl, geradkettig oder verzweigt, -C₁...₁₂-Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, -mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, -mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, bedeuten.

A steht entweder für eine Bindung, oder für $(\text{CH}_2)_m$, $(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}=\text{CH})_n-(\text{CH}_2)_p$, $-(\text{CHOZ})_n$, $-(\text{C}=\text{O})$, $-(\text{C}\equiv\text{S})$, $-(\text{C}=\text{N}-\text{Z})$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NZ}-$, wobei $m, p=0, \dots, 3$ und $n=0, \dots, 2$ sind und Z für $-\text{H}$, oder $-\text{C}_{1, \dots, 12}$ -Alkyl, geradkettig oder verzweigt, $-\text{C}_{1, \dots, 12}$ -Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, $-\text{mono-}$, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, $-\text{mono-}$, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, steht.

B kann entweder Kohlenstoff oder Schwefel sein, oder $-(\text{S}=\text{O})$ - bedeuten, D kann Sauerstoff, Schwefel, CH_2 oder N-Z sein, wobei D nur dann S oder CH_2 sein kann, wenn B Kohlenstoff bedeutet.

E kann für eine Bindung stehen, oder aber für $(\text{CH}_2)_m$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-(\text{N}-\text{Z})$, wobei m und Z die bereits zuvor beschriebene Bedeutung besitzen.

Weiterhin betrifft die Erfindung die physiologisch verträglichen Salze der Verbindungen gemäß Formel 1.

Die physiologisch verträglichen Salze werden in üblicher Weise durch Neutralisation der Basen mit anorganischen oder organischen Säuren bzw. durch Neutralisation der Säuren mit anorganischen oder organischen Basen erhalten. Als anorganische Säuren kommen zum Beispiel Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Bromwasserstoffsäure, als organische Säuren zum Beispiel Carbon-, Sulfo- oder Sulfonsäure wie Essigsäure, Weinsäure, Milchsäure, Propionsäure, Glykolsäure, Malonsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Gerbsäure, Succinsäure, Alginsäure, Benzoesäure, 2-Phenoxybenzoesäure, 2-Acetoxybenzoesäure, Zimtsäure, Mandelsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Salicylsäure, 3-Aminosalicylsäure, Ascorbinsäure, Embonsäure, Nicotinsäure, Isonicotinsäure, Oxalsäure, Aminosäuren, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, 2-Hydroxyethansulfonsäure, Ethan-1,2-disulfonsäure, Benzolsulfonsäure, 4-Methylbenzolsulfonsäure oder Naphthalin-2-sulfonsäure in Frage. Als anorganische Basen kommen zum Beispiel Natronlauge, Kalilauge, Ammoniak sowie als organische Basen Amine, bevorzugt jedoch tertiäre Amine, wie Trimethylamin, Triethylamin, Pyridin, N,N-Dimethylanilin, Chinolin, Isochinolin, α -Picolin, β -Picolin, γ -Picolin, Chinaldin oder Pyrimidin in Frage.

Desweiteren können physiologisch verträgliche Salze der Verbindungen gemäß Formel 1 dadurch gewonnen werden, daß Derivate, die tertiäre Amino-Gruppen besitzen, in an sich bekannter Weise mit Quaternierungsmitteln in die entsprechenden quaternären Ammoniumsalze überführt werden. Als Quaternierungsmittel kommen beispielsweise Alkylhalogenide wie Methyljodid, Ethylbromid und n-Propylchlorid, aber auch Arylalkylhalogenide wie Benzylchlorid oder 2-Phenylethylbromid in Frage.

Weiterhin betrifft die Erfindung von den Verbindungen der Formel 1 die ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten, die D-Form, die L-Form und D,L-Mischungen sowie im Falle mehrerer asymmetrischer Kohlenstoffatome die diastereomeren Formen. Diejenigen Verbindungen der Formel 1 die asymmetrische Kohlenstoffatome enthalten und in der Regel als Racemate anfallen, können in an sich bekannter Weise beispielsweise mit einer optisch aktiven Säure in die optisch aktiven Isomeren getrennt werden. Es ist aber auch möglich, von vornherein eine optisch aktive Ausgangssubstanz einzusetzen, wobei dann als Endprodukt eine entsprechende optisch aktive beziehungsweise diastereomere Verbindung erhalten wird. Für die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden pharmakologisch bedeutende Eigenschaften gefunden, die therapeutisch genutzt werden können. Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind Inhibitoren der Freisetzung von TNFa.

Es ist daher Gegenstand dieser Erfindung, daß die Verbindungen gemäß Formel 1 und deren Salze sowie pharmazeutische Zubereitungen, die diese Verbindungen oder deren Salze enthalten, zur Behandlung von Erkrankungen verwendet werden können, bei denen eine Inhibition von TNFa nützlich ist. Zu diesen Erkrankungen gehören beispielsweise Gelenkentzündungen einschließlich Arthritis und rheumatoide Arthritis sowie andere arthritische Erkrankungen wie rheumatoide Spondylitis und Osteoarthritis. Weitere Anwendungsmöglichkeiten sind die Behandlung von Patienten, die unter Sepsis, septischem Schock, gramnegativer Sepsis, toxischem Schocksyndrom, Atemnotsyndrom, Asthma oder anderen chronischen pulmonalen Erkrankungen, Knochenresorptions-Krankheiten oder Transplantat-Abstoßungsreaktionen oder anderen Autoimmunerkrankungen, wie Lupus erythematosus, Multiple Sklerose, Glomerulonephritis und Uveitis, Insulin abhängigem Diabetes mellitus sowie chronischer Demyelinisierung leiden.

Außerdem können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch zur Therapie von Infektionen wie Virusinfektionen und Parasiten-Infektionen, beispielsweise zur Therapie von Malaria, infektionsbedingtem Fieber, infektionsbedingten Muskelschmerzen, AIDS und Kachexien eingesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind Inhibitoren der Phosphodiesterase 4.

Es ist daher Gegenstand dieser Erfindung, daß die Verbindungen gemäß Formel 1 und deren Salze sowie pharmazeutische Zubereitungen, die diese Verbindungen oder deren Salze enthalten, zur Behandlung von Erkrankungen verwendet werden können, bei denen eine Inhibition der Phosphodiesterase 4 nützlich ist.

So können die erfindungsgemäßen Verbindungen als Bronchodilatoren und zur Asthma-Prophylaxe eingesetzt werden. Die Verbindungen gemäß Formel 1 sind weiterhin Inhibitoren der Akkumulation von Eosinophilen sowie deren Aktivität. Demzufolge können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch bei Erkrankungen eingesetzt werden, bei denen Eosinophile eine Rolle spielen. Zu diesen Erkrankungen gehören beispielsweise entzündliche Atemwegserkrankungen wie Asthma bronchiale, allergische Rhinitis, allergische Konjunktivitis, atopische Dermatitis, Ekzeme, allergische Angiitis, durch Eosinophile vermittelte Entzündungen wie eosinophile Fasciitis, eosinophile Pneumonie und PIE-Syndrom (Pulmonale Infiltration mit Eosinophilie), Urtikaria, ulcerative Colitis, die Crohn-Krankheit und proliferative Hauterkrankungen wie Psoriasis oder Keratosis. Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen weiterhin neuroprotektive Eigenschaften und können zur Therapie von Krankheiten verwendet werden, bei denen Neuroprotektion nützlich ist. Solche Erkrankungen sind beispielsweise senile Demenz (Alzheimer's Krankheit), Gedächtnisschwund, Parkinson's Krankheit, Depressionen, Schlaganfälle und Claudikatio intermittens.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten der erfindungsgemäßen Verbindungen sind die Prophylaxe und Therapie von Prostata-Krankheiten, wie beispielsweise benigne Prostata-Hyperplasie, Pollakisurie, Nocturie sowie zur Behandlung von Blasenschwäche und von durch Harnsteine ausgelösten Koliken.

Schließlich können die erfindungsgemäßen Verbindungen ebenfalls zur Inhibition der Entstehung einer Arzneimittel-

abhängigkeit bei wiederholtem Einsatz von Analgetika, wie beispielsweise Morphin sowie zur Verringerung der Toleranzentwicklung beim wiederholten Einsatz von diesen Analgetika verwendet werden.

Zur Herstellung der Arzneimittel wird neben den üblichen Hilfsmitteln, Träger- und Zusatzstoffen eine wirksame Dosis der erfindungsgemäßen Verbindungen oder deren Salze verwendet. Die Dosierung der Wirkstoffe kann je nach Verabfolgungsweg, Alter, Gewicht des Patienten, Art und Schwere der zu behandelnden Erkrankungen und ähnlichen Faktoren variieren. Die tägliche Dosis kann als einmal zu verabreichende Einzeldosis oder unterteilt in 2 oder mehrere Tagesdosen gegeben werden und beträgt in der Regel 0,001–100 mg.

Als Applikationsform kommen orale, parenterale, intravenöse, transdermale, topische, inhalative und intranasale Zubereitungen in Frage.

Zur Anwendung kommen die üblichen galenischen Zubereitungsformen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, dispergierbare Pulver, Granulate, wäßrige Lösungen, wäßrige oder ölige Suspensionen, Sirup, Säfte oder Tropfen.

Feste Arzneiformen können inerte Inhalts- und Trägerstoffe enthalten, wie z. B. Calciumcarbonat, Calciumphosphat, Natriumphosphat, Lactose, Stärke, Mannit, Alginate, Gelatine, Guar-Gummi, Magnesium- oder Aluminiumstearat, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, Silikonöl, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar oder pflanzliche oder tierische Fette und Öle, feste hochmolekulare Polymere (wie Polyethylenglykol); für orale Applikation geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls zusätzliche Geschmacks- und/oder Süßstoffe enthalten.

Flüssige Arzneiformen können sterilisiert sein und/oder gegebenenfalls Hilfsstoffe wie Konservierungsmittel, Stabilisatoren, Netzmittel, Penetrationsmittel, Emulgatoren, Spreitmittel, Lösungsvermittler, Salze, Zucker oder Zuckeralkohole zur Regelung des osmotischen Drucks oder zur Pufferung und/oder Viskositätsregulatoren enthalten. Derartige Zusätze sind zum Beispiel Tartrat- und Citrat-Puffer, Ethanol, Komplexbildner (wie Ethylendiamin-tetraessigsäure und deren nicht-toxische Salze). Zur Regelung der Viskosität kommen hochmolekulare Polymere in Frage wie beispielsweise flüssiges Polyethylenoxid, mikrokristalline Cellulosen Carboxymethylcellulosen, Polyvinylpyrrolidone, Dextrane oder Gelatine. Feste Trägerstoffe sind zum Beispiel Stärke, Lactose, Mannit, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäuren, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette, feste hochmolekulare Polymere wie Polyethylenglykol.

Ölige Suspensionen für parenterale oder topische Anwendungen können vegetabile synthetische oder semisynthetische Öle wie beispielsweise flüssige Fettsäureester mit jeweils 8 bis 22 C-Atomen in den Fettsäureketten, zum Beispiel Palmitin-, Laurin-, Tridecyl-, Margaritin-, Stearin-, Arachin-, Myristin-, Behen-, Pentadecyl-, Linol-, Elaidin-, Bräsidin-, Eruca- oder Ölsäure, die mit ein- bis dreiwertigen Alkoholen mit 1 bis 6 C-Atomen wie beispielsweise Methanol, Ethanol, Propanol, Butanol, Pentanol oder deren Isomere, Glycol oder Glycerol verestert sind, sein. Derartige Fettsäureester sind beispielsweise handelsübliche Miglyole, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Isopropylstearat, PEG 6-Caprin-säure, Capryl/Caprin-säureester von gesättigten Fettalkoholen, Polyoxyethylenglyceroltrioleat, Ethylol-leat, wachsartige Fettsäureester wie künstliches Entenbüzeldrüsenfett, Kokosfettsäure-isopropylester, Ölsäureoleylester, Ölsäuredecylester, Milchsäureethylester, Dibutylphthalat, Adipinsäurediisopropylester, Polyol-Fettsäureester u. a. Ebenso geeignet sind Silikonöle verschiedener Viskosität oder Fettalkohole wie Isotridexylalkohol, 2-Octyldodecanol, Cetylstearyl-Alkohol oder Oleylalkohol, Fettsäuren wie beispielsweise Ölsäure. Weiterhin können vegetabile Öle wie Rizinusöl, Mandelöl, Olivenöl, Sesamöl, Baumwollsaatöl, Erdnußöl oder Sojabohnenöl Verwendung finden.

Als Lösungsmittel, Gelbildner und Lösungsvermittler kommen in Frage Wasser oder mit Wasser mischbare Lösungsmittel. Geeignet sind zum Beispiel Alkohole wie beispielsweise Ethanol oder Isopropylalkohol, Benzylalkohol, 2-Octyldodecanol, Polyethylenglykole, Phthalate, Adipate, Propylenglykol, Glycerin, Di- oder Tripropylenglykol, Wachse, Methylcellosolve, Cellosolve, Ester, Morpholine, Dioxan, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid, Tetrahydrofuren, Cyclohexanon etc.

Als Filmbildner können Celluloseether verwendet werden, die sich sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln lösen bzw. anquellen können, wie beispielsweise Hydroxypropylmethylcellulose, Methylcellulose, Ethylcellulose oder lösliche Stärken.

Mischformen zwischen Gel- und Filmbildnern sind durchaus ebenfalls möglich. Hier kommen vor allem ionische Makromoleküle zur Anwendung, wie z. B. Natriumcarboxymethylcellulose, Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure und deren Salze, Natriumamyllopektinsemiglykolat, Alginsäure oder Propylenglykol-Alginat als Natriumsalz, Gummi arabicum, Xanthan-Gummi, Guar-Gummi oder Carrageenan. Als weitere Formulierungshilfsmittel können eingesetzt werden: Glycerin, Paraffin unterschiedlicher Viskosität, Triethanolamin, Collagen, Allantoin, Novantisäure. Auch die Verwendung von Tensiden, Emulgatoren oder Netzmitteln kann zur Formulierung notwendig sein, wie z. B. von Na-Laurylsulfat, Fettalkoholethersulfaten, Di-Na-N-lauryl- β -iminodipropionat, polyoxyethyliertes Rizinusöl oder Sorbitan-Monooleat, Sorbitan-Monostearat, Polysorbaten (z. B. Tween), Cetylalkohol, Lecithin, Glycerinmonostearat, Polyoxyethylenstearat, Alkylphenolpolyglykolether, Cetyltrimethylammoniumchlorid oder Mono-/Dialkylpolyglykolether-orthophosphorsäure-monoethanolaminsalzen. Stabilisatoren wie Montmorillonite oder kolloidale Kieselsäuren zur Stabilisierung von Emulsionen oder zur Verhinderung des Abbaus der aktiven Substanzen wie Antioxidantien, beispielsweise Tocopherole oder Butylhydroxyanisole, oder Konservierungsmittel, wie p-Hydroxybenzoesäureester, können ebenfalls zur Zubereitung der gewünschten Formulierungen gegebenenfalls erforderlich sein.

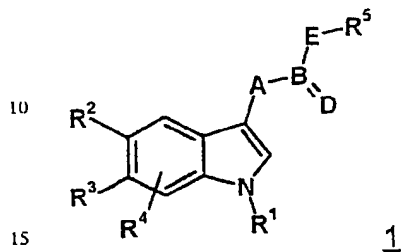
Zubereitungen zur parenteralen Applikation können in separaten Dosiseinheitenformen wie z. B. Ampullen oder Vials vorliegen. Vorzugsweise werden Lösungen des Wirkstoffes verwendet, bevorzugt wässrige Lösungen und vor allem isotonische Lösungen aber auch Suspensionen. Diese Injektionsformen können als Fertigpräparat zur Verfügung gestellt werden oder erst direkt vor der Anwendung durch Mischen der wirksamen Verbindung, zum Beispiel des Lyophilisats, gegebenenfalls mit weiteren festen Trägerstoffen, mit dem gewünschten Lösungs- oder Suspensionsmittel zubereitet werden.

Intranasale Zubereitungen können als wäßrige oder ölige Lösungen bzw. als wäßrige oder ölige Suspensionen vorliegen. Sie können auch als Lyophilisate vorliegen, die vor der Anwendung mit dem geeigneten Lösungs- oder Suspensionsmittel zubereitet werden.

Die Herstellung, Abfüllung und Verschließung der Präparate erfolgt unter den üblichen antimikrobiellen und aseptischen Bedingungen.

Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen.

- Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der allgemeinen Formel 1 mit den zuvor dargestellten Bedeutungen von $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, A, B, D$ und E hergestellt,



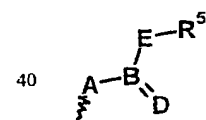
indem Verbindungen gemäß Formel 1 für die R^2 oder R^3 bzw. R^2 und $R^3 = -O-R^7$ bedeuten, durch Abspaltung von R^7 in die erfindungsgemäßen Verbindungen überführt werden.

- R^7 steht dabei für als Abgangsgruppe geeignete Substituenten, wie beispielsweise Alkyl-, Cycloalkyl-, Arylalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Acyl-, Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Aminocarbonyl-, N-substituierte Aminocarbonyl-, Silyl-, Sulfonyl-Gruppen sowie Komplexbildner, wie zum Beispiel Verbindungen der Borsäure, der Phosphorsäure sowie kovalent oder koordinativ gebundene Metalle, wie Zink, Aluminium oder Kupfer. Eine im Sinne der erfindungsgemäßen Herstellungsverfahren besonders bevorzugte Reaktion zur Abspaltung von R^7 sind Verseifungen mit geeigneten Basen, wie beispielsweise Natronlauge, Kali lauge oder Natriumcarbonat bzw. Kaliumcarbonat.

- Diese Verseifungen werden für $R^7 =$ Acyl-, Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Aminocarbonyl-, N-substituierte Aminocarbonyl-, Silyl-, Sulfonyl-Gruppen sowie Komplexbildner, wie zum Beispiel Verbindungen der Borsäure, der Phosphorsäure sowie koordinativ gebundene Metalle, wie Zink, Aluminium oder Kupfer bevorzugt verwendet.

- Eine im Sinne der erfindungsgemäßen Herstellungsverfahren besonders bevorzugte Reaktion zur Abspaltung von R^7 aus den Verbindungen, in denen R^7 eine Alkyl-, Cycloalkyl-, Arylalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-Gruppe ist, sind Etherspaltungen beispielsweise mittels Bromwasserstoffsäure, Chlorwasserstoffsäure, Jodwasserstoffsäure sowie mit aktivierenden Lewis-Säuren, wie beispielsweise $AlCl_3$, BF_3 , BBR_3 oder $LiCl$, jeweils in Abwesenheit oder in Gegenwart zusätzlicher Aktivatoren, wie beispielsweise Ethan-1,2-dithiol oder Benzylmercaptan sowie Etherspaltungen mittels Wasserstoff, unter erhöhtem Druck oder unter Normaldruck, in Gegenwart eines geeigneten Katalysators, wie beispielsweise Palladium- oder Iridium-Katalysatoren.

- Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der allgemeinen Formel 1 mit den zuvor dargestellten Bedeutungen von $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, A, B, D$ und E auch hergestellt, indem durch Umwandlungen der Teilstruktur:



- durch an sich bekannte Reaktionen erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 in andere erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 überführt werden. Besonders bevorzugte Umwandlungsreaktionen mit erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel 1 sind beispielsweise für $A = -(C=O)-$ Reduktionen zu $A = -(CH-OH)-$ oder $A = -CH_2-$ mittels an sich bekannter Reduktionsmittel, wie beispielsweise Natriumborhydrid bzw. durch Hydrierungen, die ggf. auch stereoselektiv durchgeführt werden können.

- Weitere bevorzugte Umwandlungsreaktionen sind die Überführung von Verbindungen, für die D und E Sauerstoff bedeutet in Substanzen, bei denen nur noch D Sauerstoff bedeutet, E aber für $-(N-Z)-$ steht, wobei Z die bereits erklärte Bedeutung hat.

Ausführungsbeispiele

- Exemplarische Herstellungsverfahren für erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 aus Ausgangsstoffen der beschriebenen Art, bei denen R^7 eine Alkyl-, Cycloalkyl-, Arylalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-Gruppe ist:

Beispiel 1

- N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (1)

- 1,4 g N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-methoxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (3 mmol) werden in 100 ml Dichlormethan gelöst. Die Lösung wird zum Rückfluß erhitzt und unter Rühren mit einer Lösung von 14 mmol BBR_3 in 15 ml Dichlormethan versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden am Rückfluß gekocht. Nach Abkühlung wird die Lösung mit 200 ml einer wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung bei $20^\circ C$ 3 Stunden lang intensiv verrührt. Dabei kristallisiert das Produkt aus. Es wird isoliert, bei $60^\circ C$ getrocknet und aus 80 ml Ethanol umkristallisiert. Ausbeute: 1,1 g (80% d. Theorie), Schmelzpunkt: $213-214^\circ C$.

Beispiel 2

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (1)

5 g (38 mmol) wasserfreies Aluminiumchlorid werden in 50 ml Ethan-1,2-dithiol vorgelegt. Bei 0°C wird eine Lösung von 4,7 g N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-methoxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (10 mmol) in 50 ml Dichlormethan zugegeben. Das Gemisch wird 4 Stunden bei 0°C gerührt. Unter Rühren werden bei 0–10°C 50 ml 10%ige Salzsäure zugetropft. Das kristallisierende Produkt wird isoliert, mit Wasser gewaschen und bei 20°C getrocknet. Durch Umkristallisation aus Ethanol (180 ml) wird ein reines Produkt erhalten.

Ausbeute: 3,1 g (67% der Theorie),
Schmelzpunkt: 212–214°C.

Exemplarisches Herstellungsverfahren für erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 aus Ausgangsstoffen der beschriebenen Art, bei denen R¹ eine Acyl-, Alkoxycarbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Aminocarbonyl-, N-substituierte Anionocarbonyl-, Silyl-, Sulfonyl-Gruppe ist:

Beispiel 3

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid-Na-Salz (2)

5 g N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[5-acetoxy-1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (10 mmol) werden in 50 ml verdünnter Natronlauge 1 Stunde bei 40–50°C gerührt. Die Lösung wird unter Kühlung mit Eis mit Salzsäure (10%ig) neutralisiert und bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wird in 80 ml Aceton gelöst. Unlösliche Bestandteile werden abgetrennt. Die klare Lösung wird mit einer Lösung von 0,4 g NaOH in 3 ml Wasser versetzt und 2 Stunden bei 20°C gerührt. Das kristallisierte Produkt wird isoliert, mit Aceton gewaschen und bei 60°C getrocknet.

Ausbeute: 2,44 g (51% der Theorie),
Schmelzpunkt: 265°C.

Exemplarisches Herstellungsverfahren für erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 aus anderen erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel 1:

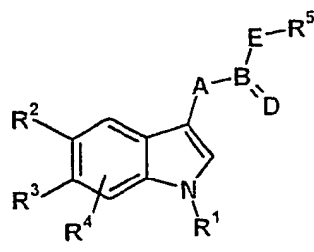
Beispiel 4

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-hydroxy-acetamid (3)

1 g N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid (1; 2 mmol) werden in 75 ml Methanol suspendiert. Nach Zugabe einer Lösung von 0,2 g Natriumborhydrid in 3 ml verdünnter Natronlauge wird das Reaktionsgemisch 6 Stunden bei 20°C gerührt. Nachdem das Lösungsmittel abdestilliert wurde, wird der Rückstand aus 40 ml Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,5 g (50% der Theorie),
Schmelzpunkt: 205–207°C.

Unter Verwendung der angegebenen beispielhaften Varianten können zahlreiche weitere Verbindungen der Formel 1 hergestellt werden, von denen folgende beispielhaft angeführt werden:



1

Verb.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	A	B	D	E	Schmelzpkt. [°C]
1	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	215
2	4-Fluor- benzyl-	-O ⁻ Na ⁺	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	265
3	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(CHOH)-	C	O	-(N-H)-	205 - 207
4	2,6-Difluor- benzyl-	-OH	-H	-H	4-Pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	327 - 329
5	2,6-Difluor- benzyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	266 - 268
6	3-Nitro- benzyl-	-O ⁻ Na ⁺	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	235 - 238 zers.
7	n-Propyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	280 - 282
8	Isopropyl- Cyclopentyl- methyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	245 - 247
9	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	246 - 248
10	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	2,6-Dichlor- phenyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	216 - 218
11	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	2,6-Dichlor-4-trifluor- methyl-phenyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	199 - 201
12	4-Fluor- benzyl-	-OH	-H	-H	2,6-Dichlor-4-trifluor- methoxy-phenyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	176 - 178
13	4-Fluor- benzyl-	-H	-OH	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-(C=O)-	C	O	-(N-H)-	212 - 213
14	4-Methoxy- benzyl	-OH	-H	-H	3,5-Dichlor- 4-pyridyl-	-	C	O	-(N-H)-	239 - 241

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind starke Inhibitoren der Phosphodiesterase 4 und der TNF α Freisetzung. Ihr therapeutisches Potential wird in vivo beispielsweise durch die Hemmung der asthmatischen Spätphase-Reaktion (Eosinophilie) am Meerschweinchen sowie durch die Beeinflussung der Allergen-induzierten vaskulären Permeabilität an aktiv sensibilisierten Brown-Norway Ratten belegt.

Inhibition der Phosphodiesterase

Die PDE 4-Aktivität wird in Enzympräparationen aus humanen polymorphkernigen Lymphocyten (PMNL) bestimmt, die PDE 2, 3 und 5-Aktivität mit PDE aus humanen Thrombocyten. Humanes Blut wurde mit Citrat anticoaguliert. Durch eine Zentrifugation bei 700 x g für 20 Minuten bei RT wird das thrombocytenreiche Plasma im Überstand von den Erythrocyten und Leukocyten getrennt. Die Thrombocyten werden durch Ultraschall lysiert und im PDE 3 und PDE 5-Assay eingesetzt. Für die Bestimmung der PDE 2-Aktivität wird die cytosolische Thrombocytenfraktion über einer Anionenaustauschersäule mittels NaCl-Gradienten gereinigt und der PDE 2-Peak wird für den Assay gewonnen. Die PMNLs für die PDE 4-Bestimmung werden durch eine folgende Dextransedimentation und anschließende Gradientenzentrifugation mit Ficoll-Paque isoliert. Nach einem zweimaligen Waschen der Zellen werden die noch enthaltenden Erythrocyten durch die Zugabe von 10 ml hypotonischem Puffer (155 mM NH₄Cl, 10 mM NaHCO₃, 0,1 mM EDTA, pH=7,4) innerhalb von 6 Minuten bei 4°C lysiert. Die noch intakten PMNLs werden noch zwei Mal mit PBS gewaschen und mittels Ultraschall lysiert. Der Überstand einer einstündigen Zentrifugation bei 4°C bei 48000 x g enthält die cytosolische Fraktion der PDE 4 und wird für die PDE 4-Messungen eingesetzt.

Die Phosphodiesterase-Aktivität wird mit einigen Modifizierungen nach der von Thompson et al. beschriebenen Methode bestimmt. (Thompson, W. J.; Appleman, M. M., Assay of cyclic nucleotide phosphodiesterase and resolution of multiple molecular forms of the enzyme. Adv. Cycl. Nucl. Res. 1979, 10, 69-92). Die Reaktionsmischungen enthalten 50 mM Tris-HCl (pH 7,4), 5 mM MgCl₂, die Inhibitoren in variablen Konzentration, die entsprechende Enzympräparation sowie die zur Erfassung der einzelnen Isoenzyme notwendigen weiteren Komponenten. (siehe unten). Durch die Zugabe des Substrates 0,5 μ M [³H]-cAMP oder [³H]-cGMP (ca. 6000 CPM/Test) wird die Reaktion gestartet. Das Endvolumen beträgt 100 ml. Testsubstanzen werden als Stammlösungen in DMSO angesetzt. Die DMSO-Konzentration im Reaktionsgemisch ist 1% v/v. Bei dieser DMSO-Konzentration wird die PDE-Aktivität nicht beeinflusst. Nach dem Start der Reaktion mittels Substrat-Zugabe werden die Proben 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Durch ein Erhitzen der Testtubes für 2 Minuten auf 110°C wird die Reaktion gestoppt. Die Proben bleiben für weitere 10 Minuten im Eis. Nach der Zugabe von 30 μ l 5'-Nukleotidase (1 mg/ml, aus einer Schlangengiftsuspension aus Crotalus adamanteus) erfolgt eine Inkubation für 10 Minuten bei 37°C. Die Proben werden auf Eis abgestoppt, jeweils 400 μ l einer Mischung aus Dowex-Wasser-Ethanol (1+1+1) zugegeben, gut gemixt und wieder 15 Minuten auf Eis inkubiert. Die Reaktionsgefäße werden 20 Minuten bei 3000 x g zentrifugiert. 200 μ l Aliquotes des Überstandes werden direkt in Szintillationsgefäße überführt. Nach der Zugabe von 3 ml Szintillator werden die Proben im Beta-counter gemessen.

Für die Bestimmung der PDE 4, 3 und 2-Aktivität wird als Substrat [³H]-cAMP, für die Bestimmung der PDE 5-Aktivität [³H]-cGMP verwendet. Die jeweils unspezifischen Enzymaktivitäten werden in Gegenwart von 100 μ M Rolipram bei der PDE 4 und in Gegenwart von 100 μ M IBMX bei der Bestimmung der PDE 3 und 5 ermittelt und von den Testwerten subtrahiert. Die Inkubationsansätze des PDE 3-Assays enthalten 10 μ M Rolipram, um eventuelle Verunreinigungen durch die PDE 4 zu hemmen. Die PDE 2 wird mit einem SPA-Assay der Firma Amersham getestet. In Gegenwart des Aktivators der PDE 2 (5 μ M cGMP) wird der Assay durchgeführt.

Für die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden bezüglich der Inhibition der Phosphodiesterase 4 IC₅₀-Werte im Bereich von 10⁻⁹ bis 10⁻⁵ M bestimmt. Die Selektivität gegenüber den PDE-Typen 2, 3 und 5 beträgt Faktor 100 bis 10.000.

Hemmung der TNF α Freisetzung aus Zellen nasaler Polypen

Die Versuchsanordnung entspricht im wesentlichen der von Campbell, A. M. und Bousquet J. (Anti-allergic activity of H₁-blockers. Int. Arch. Allergy Immunol., 1993, 101, 308-310) beschriebenen Methode. Das Ausgangsmaterial bilden nasale Polypen (OP-Material) von Patienten die sich einer chirurgischen Behandlung unterzogen haben.

Das Gewebe wird mit RPMI 1640 gewaschen und anschließend mit Protease (2,0 mg/ml), Collagenase (1,5 mg/ml), Hyaluronidase (0,75 mg/ml) und DNase (0,05 mg/ml) über 2 h bei 37°C aufgeschlossen (1 g Gewebe auf 4 ml RPMI 1640 mit Enzymen). Die erhaltenen Zellen, eine Mischung aus Epithelzellen, Monozyten, Makrophagen, Lymphocyten, Fibroblasten und Granulozyten, werden filtriert und durch wiederholtes Zentrifugieren in Nährlösung gewaschen, durch Zugabe von humanem IgE passiv sensibilisiert und die Zellsuspension auf eine Konzentration von 2 Mio Zellen/ml in RPMI 1640 (ergänzt mit Antibiotika, 10% fetalem Kälberserum, 2 mM Glutamin und 25 mM Hepes) eingestellt. Diese Suspension wird auf 6-Well-Zellkulturplatten (1 ml/well) verteilt. Die Zellen werden mit den Prüfsubstanzen in verschiedenen Endkonzentrationen 30 min vorinkubiert und anschließend durch Zugabe von Anti-IgE (7,2 μ g/ml) zur TNF α Freisetzung angeregt. Die maximale Freisetzung in das Nährmedium erfolgt nach ca. 18 Stunden. In diesem Zeitraum werden die Zellen bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Das Nährmedium (Überstand) wird durch Zentrifugation gewonnen (5 min 4000 U/min) und bis zur Zytokinbestimmung bei -70°C gelagert. Die Bestimmung von TNF α im Überstand erfolgt mit sog. Sandwich-ELISAs (Grundmaterial Pharmingen), mit denen Konzentrationen des Zytokins im Bereich von 30-1000 pg/ml nachgewiesen werden können.

Nicht mit Anti-IgE stimulierte Zellen produzieren kaum TNF α , stimulierte Zellen dagegen sezernieren große Mengen an TNF α , was z. B. durch PDE 4 Inhibitoren dosisabhängig vermindert werden kann. Aus der prozentualen Hemmung (TNF α -Freisetzung der mit Anti-IgE stimulierte Zellen = 100%) der geprüften Substanzen bei verschiedenen Konzentrationen wird die IC₅₀ (concentration at 50% inhibition) berechnet.

Für die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden IC₅₀-Werte im Bereich von 10⁻⁷ bis 10⁻⁵ M bestimmt.

Hemmung der Spätphasen-Eosinophilie 24 h nach inhalativer Ovalbuminchallenge an aktiv sensibilisierten Meerschweinchen

Die Hemmung der pulmonalen Eosinophilen-Infiltration durch die Substanzen wird in einem in vivo Test an aktiv gegen Ovalbumin (OVA) sensibilisierten männlichen Dunkin-Hartley Meerschweinchen (200–260 g) geprüft. Die Sensibilisierung erfolgt durch zwei intraperitoneale Injektionen einer Suspension von 20 µg OVA zusammen mit 20 mg Aluminiumhydroxid als Adjuvans in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung pro Tier an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. 14 Tage nach der zweiten Injektion werden die Tiere mit Mepyramin maleat (10 mg/kg i.p.) vorbehandelt, um sie vor dem anaphylaktischen Tod zu schützen. 30 Minuten später werden die Tiere in einer Plastikbox für 30 sec einem OVA-Aerosol ausgesetzt (0,5 mg/ml) das von einem mit Pressluft (19,6 kPa) getriebenen Vernebler erzeugt wird (Allergen-Challenge). Kontrolltiere werden mit physiologischer Kochsalzlösung vernebelt. 24 Stunden nach der Challenge werden die Tiere mit einer Überdosis Ethylurethan (1,5 g/kg Körpergewicht i.p.) narkotisiert und eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) mit 2x 5 ml physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt. Die BAL-Flüssigkeit wird gesammelt, bei 300 rpm für 10 min zentrifugiert und anschließend das Zellpellet in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert. Die Eosinophilen in der BAL werden mit einem automatischen Zelldifferenzierungsgerät (Bayer Diagnostics Technicon H1) gezählt. Bei jedem Test werden 2 Kontrollgruppen (Vernebelung mit physiologischer Kochsalzlösung und Vernebelung mit OVA-Lösung) mitgeführt. Die prozentuale Hemmung der Eosinophilie der mit Substanz behandelten Versuchsgruppe wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Hemmung} = 100 - \frac{100 \cdot (B - C)}{(A - C)}$$

A = Eosinophile in der Kontrollgruppe mit OVA-Challenge und Vehicel

B = Eosinophile in der mit Substanz behandelten Gruppe mit OVA-Challenge

C = Eosinophile in der Kontrollgruppe mit 0,9%iger NaCl-Challenge und Vehicel.

Die Testsubstanzen werden intraperitoneal oder oral als Suspension in 10% Polyethylenglycol 300 und 0,5%iger 5-Hydroxyethylcellulose 2 Stunden vor der Allergen-Challenge appliziert. Die Kontrollgruppen werden entsprechend der Applikationsform der Testsubstanz mit dem Vehicel behandelt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen hemmen die Spätphasen-Eosinophilie nach intraperitonealer Applikation von 10 mg/kg um 30% bis 80% und nach oraler Applikation von 30 mg/kg um 40% bis 70%.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind somit besonders geeignet für die Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Erkrankungen, die mit dem Wirken von Eosinophilen verbunden sind.

Beeinflussung der Allergen-induzierten vaskulären Permeabilität an aktiv sensibilisierten Brown-Norway Ratten

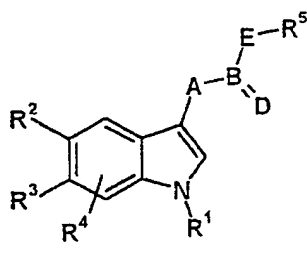
Männliche Brown-Norway Ratten im Gewicht von 280–300 g werden an 2 aufeinanderfolgenden Tagen durch intraperitoneale Injektion einer Suspension von 1 mg Ovalbumin zusammen mit 100 mg Aluminiumhydroxid in 1 ml/Tier aktiv sensibilisiert. Drei Wochen nach der Sensibilisierung werden die Ratten mit Natriumthiopental narkotisiert und in Rückenlage fixiert. Zur Perfusion der Nasenhöhle wurde in die Trachea ein Polyethylenkatheter retrograd bis zur inneren Öffnung der Choanen vorgeschoben, so daß die Lösung durch die Nasenlöcher austropfen konnte. Ein kurzer Trachealkatheter wurde orthograd in die Trachea eingebunden, um die Atmung zu ermöglichen. Zur Perfusion wurde Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (PBS) kontinuierlich mit einer Rollerpumpe durch die Nasenhöhle gepumpt (0,5 ml/min) und durch einen Fraktionssammler gesammelt. Evans Blue wurde als Plasmamarker verwendet und intravenös (je 1 ml/Tier einer 1%igen Lösung in PBS) durch einen in der Vena jugularis liegenden Katheter injiziert.

Die Substanzapplikation erfolgte topisch. Bei dieser Applikation wurde die Testsubstanz dem Perfusionsmedium (PBS) zugesetzt. Die nasale Schleimhaut wurde 30 Min lang mit PDE4-Inhibitor-haltiger Lösung perfundiert. Anschließend wurde Evans blue unmittelbar vor Beginn der Perfusion mit Ovalbumin-haltiger Lösung (Challenge) injiziert. Nach Beginn der Ovalbuminchallenge (10 mg/ml Ovalbumin in PBS gelöst) wurden alle 15 min Fraktionen in den Fraktionssammler über einen Zeitraum von 60 min gesammelt. Die Evans Blue-Konzentration in den Perfusaten wurde mit dem Photometer Digiscan bei einer Wellenlänge von 620 nm gemessen. Dabei wurden die Blankwerte automatisch abgezogen. Der Wirkungsverlauf über 60 min wurde mit einem AUC-Programm berechnet. Die Substanzwirkung der Präparatgruppe wurde gegen Vehikelkontrollen in % berechnet.

Für die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden IC₅₀-Werte im Bereich von 10⁻⁸ bis 10⁻⁵ M bestimmt.

Patentansprüche

1. 1-Hydroxyindole der Formel 1



1

worin

R^1, R^5 für $-C_{1...12}$ -Alkyl, geradkettig oder verzweigt, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit $-OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6$, $-NO_2, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_3H, -SO_2R^6, -OSO_2C_{1...6}$ Alkyl, $-OSO_2C_{6...14}$ Aryl, $-(CS)R^6, -COOH, -(CO)R^6$, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die $C_{6...14}$ Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R^4 substituiert sein können,

$-C_{1...12}$ -Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit $-OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6, -NO_2, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_3H, -SO_2R^6, -OSO_2C_{1...6}$ Alkyl, $-OSO_2C_{6...14}$ Aryl, $-(CS)R^6, -COOH, (CO)R^6$, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die $C_{6...14}$ Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R^4 substituiert sein können,

-mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit $-OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6, -NO_2, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_3H, -SO_2R^6, -OSO_2C_{1...6}$ Alkyl, $-OSO_2C_{6...14}$ Aryl, $-(CS)R^6, -COOH, -(CO)R^6$, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die $C_{6...14}$ Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R^4 substituiert sein können,

-mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit $-OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6, -NO_2, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_3H, -SO_2R^6, -OSO_2C_{1...6}$ Alkyl, $-OSO_2C_{6...14}$ Aryl, $-(CS)R^6, -COOH, -(CO)R^6$, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die $C_{6...14}$ Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R^4 substituiert sein können,

-carbo- oder heterocyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Spirocyclen mit 3...10 Ringgliedern, wobei heterocyclische Systeme 1...6 Heteroatome enthalten, die vorzugsweise N, O und S sind, ggf. ein- oder mehrfach substituiert mit $-OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6, -NO_2, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_3H, -SO_2R^6, -OSO_2C_{1...6}$ Alkyl, $-OSO_2C_{6...14}$ Aryl, $-(CS)R^6, -COOH, -(CO)R^6$, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind, wobei die $C_{6...14}$ Aryl-Gruppen und die eingeschlossenen carbocyclischen und heterocyclischen Substituenten ihrerseits ggf. ein- oder mehrfach mit R^4 substituiert sein können,

steht, wobei R^1 und R^5 gleich oder verschieden sein können

R^2, R^3 können Wasserstoff oder $-OH$ sein, wobei mindestens einer von beiden Substituenten $-OH$ sein muß;

R^4 steht für $-H, -OH, -SH, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-NHCOR^6, -NO_2, -CN, -COOH, -(CO)R^6, -(CS)R^6, -F, -Cl, -Br, -I, -O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-O(CO)R^6, -S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-SOR^6, -SO_2R^6$,

R^6 kann $-H, -NH_2, -NHC_{1...6}$ -Alkyl, $-N(C_{1...6}$ -Alkyl) $_2$, $-NHC_{6...14}$ Aryl, $-N(C_{6...14}$ Aryl) $_2$, $-N(C_{1...6}$ Alkyl)($C_{6...14}$ Aryl), $-O-C_{1...6}$ -Alkyl, $-O-C_{6...14}$ -Aryl, $-S-C_{1...6}$ -Alkyl, $-S-C_{6...14}$ Aryl, $-C_{1...12}$ -Alkyl, geradkettig oder verzweigt, $-C_{1...12}$ -Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, -mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern,

-mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind,

bedeuten.

Λ steht entweder für eine Bindung, oder für $-(CH_2)_m-$, $(CH_2)_m-(CH=CH)_n-(CH_2)_p-$, $-(CHOZ)_m-$, $-(C=O)-$, $-(C=S)-$, $-(C=N-Z)-$, $-O-$, $-S-$, $-NZ-$, wobei $m, p=0, \dots, 3$ und $n=0, \dots, 2$ sind und

Z für $-H$, oder

$-C_{1 \dots 12}$ -Alkyl, geradkettig oder verzweigt, oder

$-C_{1 \dots 12}$ -Alkenyl, ein oder mehrfach ungesättigt, geradkettig oder verzweigt, -mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Carbocyclen mit 3...14 Ringgliedern, -mono-, bi- oder tricyclische gesättigte oder ein- oder mehrfach ungesättigte Heterocyclen mit 5...15 Ringgliedern und 1...6 Heteroatomen, die vorzugsweise N, O und S sind,

steht;

B kann entweder Kohlenstoff oder Schwefel sein, oder $-(S=O)-$ bedeuten,

D kann Sauerstoff, Schwefel, CH_2 oder $N-Z$ sein, wobei D nur dann S oder CH_2 sein kann, wenn B Kohlenstoff bedeutet,

E kann für eine Bindung stehen, oder aber für $-(CH_2)_m-$, $-O-$, $-S-$, $-(N-Z)-$, wobei m und Z die bereits zuvor beschriebene Bedeutung besitzen.

2. Physiologisch verträgliche Salze der Verbindungen nach Formel 1 gemäß Anspruch 1, gekennzeichnet durch Neutralisation der Basen mit anorganischen oder organischen Säuren bzw. durch Neutralisation der Säuren mit anorganischen oder organischen Basen bzw. durch Quaternierung tertiärer Amine zu quaternären Ammoniumsalzen.

3. Verbindungen nach Formel 1 gemäß Anspruch 1 und 2 mit einem asymmetrischen Kohlenstoffatom in der D-Form, der L-Form und D,L-Mischungen sowie im Falle mehrerer asymmetrischer Kohlenstoffatome die diastereomeren Formen.

4. Von den Verbindungen nach Formel 1 gemäß Anspruch 1 bis 3 besonders eine der folgenden Verbindungen:

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid-Na-Salz;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-hydroxy-acetamid;

N-(Pyridin-4-yl)-2-[1-(2,6-difluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(2,6-difluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(3-nitrobenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid-Na-Salz;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-(1-propyl-5-hydroxy-indol-3-yl)-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-(1-isopropyl-5-hydroxy-indol-3-yl)-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-(1-cyclopentylmethyl-5-hydroxy-indol-3-yl)-2-oxo-acetamid;

N-(2,6-Dichlorphenyl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(2,6-Dichlor-4-trifluormethyl-phenyl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(2,6-Dichlor-4-trifluormethoxy-phenyl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-5-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

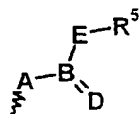
N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-2-[1-(4-fluorbenzyl)-6-hydroxy-indol-3-yl]-2-oxo-acetamid;

N-(3,5-Dichlorpyridin-4-yl)-5-hydroxy-1-(4-methoxybenzyl)-indol-3-carbonsäureamid.

5. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen nach Formel 1 gemäß Anspruch 1 bis 4, gekennzeichnet dadurch, daß Verbindungen gemäß Formel 1, für die R^2 oder R^3 bzw. R^2 und $R^3 = -O-R^7$ bedeuten, durch Abspaltung von R^7 in die erfindungsgemäßen Verbindungen überführt werden, wobei R^7 dabei für als Abgangsgruppe geeignete Substituenten steht.

6. Herstellung von Verbindungen nach Formel 1 nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5, besonders bevorzugt aus Verbindungen der Formel 1 für die R^7 Alkyl-, Cycloalkyl-, Arylalkyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Acyl-, Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl-, Aminocarbonyl-, N-substituierte Aminocarbonyl-, Silyl-, Sulfonyl-Gruppen sowie Komplexbildner, wie zum Beispiel Verbindungen der Borsäure, der Phosphorsäure sowie kovalent oder koordinativ gebundene Metalle, wie Zink, Aluminium oder Kupfer bedeutet.

7. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen nach Formel 1 gemäß Anspruch 1 bis 4, gekennzeichnet dadurch, daß Verbindungen der allgemeinen Formel 1, durch Umwandlungen der Teilstruktur:



in andere erfindungsgemäße Verbindungen der Formel 1 überführt werden.

8. Verwendung der Verbindungen nach Formel 1 gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 als therapeutische Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Erkrankungen, bei denen die Hemmung von TNF α therapeutisch nützlich ist.

9. Verwendung der Verbindungen nach Formel 1 gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 als therapeutische Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Erkrankungen, bei denen die Hemmung der Phosphodiesterase 4 therapeutisch nützlich ist.

10. Besonders bevorzugte Verwendung der Verbindungen nach Formel 1 gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 als therapeutische Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Erkrankungen, die mit dem Wirken von Eosinophilen verbunden sind.

11. Arzneimittel, enthaltend eine oder mehrere Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 neben üblichen physiologisch verträglichen Trägern und/oder Verdünnungsmitteln beziehungsweise Hilfsstoffen.

12. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels nach Anspruch 11 gekennzeichnet dadurch, daß eine oder mehrere Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 mit gebräuchlichen pharmazeutischen Trägerstoffen und/oder

Verdünnungsmitteln beziehungsweise sonstigen Hilfsstoffen zu pharmazeutischen Zubereitungen verarbeitet beziehungsweise in eine therapeutisch anwendbare Form gebracht werden

13. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel 1 gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 und/oder von pharmazeutischen Zubereitungen nach den Ansprüchen 11 und 12 allein oder in Kombination untereinander oder in Kombination mit Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln beziehungsweise sonstigen Hilfsstoffen.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

ORALLY ACTIVE INDOLE *N*-OXIDE PDE4 INHIBITORS

Christopher Hulme,^{a,*} Rose Mathew,^a Kevin Moriarty,^a Bruce Miller,^a Mercy Ramanjulu,^a
Paul Cox,^b John Souness,^b Ken M. Page,^b Joanne Uhl,^a Jeffrey Travis,^a Richard Labaudiniere,^a
Fu-chih Huang^a and Stevan W. Djuric^c

^a*Rhône-Poulenc Rorer Central Research, 500 Arcola Road, Collegeville, PA 19426, U.S.A.*

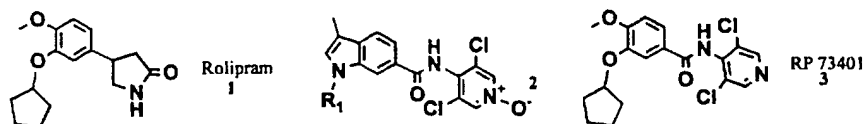
^b*Rhône-Poulenc Rorer Central Research, Dagenham, Essex, United Kingdom*

^c*Present address: Immunological Diseases Research, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, 60064, U.S.A.*

Received 22 July 1998; accepted 9 September 1998

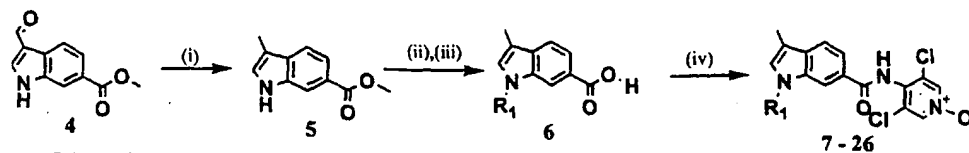
Abstract: This communication describes the synthesis and in vitro and in vivo evaluation of a novel potent series of phosphodiesterase type (IV) (PDE4) inhibitors. Several of the compounds presented possess low nanomolar IC₅₀'s for PDE4 inhibition and excellent in vivo activity for inhibition of TNF- α levels in LPS challenged mice (mouse endotoxemia model). Emesis studies (dog) and efficacy in a SCW arthritis model for the most potent PDE4 inhibitors are presented. © 1998 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

The therapeutic importance of the cytokine tumor necrosis factor (TNF- α) is well-established.¹ The efficacious effects of anti-bodies against TNF- α in the treatment of rheumatoid arthritis have further increased interest in this pivotal cytokine.² Several approaches are currently being evaluated for the inhibition of production of this cytokine, as excessive concentrations have been implicated in the pathogenesis of a large number of autoimmune disease states, including asthma, septic shock, and rheumatoid arthritis.³ Inhibition of the enzyme phosphodiesterase type IV (PDE4), which leads to increased levels of the 2^o messenger cyclic-adenosine monophosphate (cAMP) by reducing its PDE4 catalysed hydrolysis to acyclic 5'-AMP, and, consequently a drop in TNF- α production, is one such approach.⁴ The PDE4 inhibitor rolipram, **1**, has been the starting point for many approaches for the design of novel PDE4 inhibitors and introduced the now common 3-methoxy-4-cyclopentoxy motif commonly observed in many of these new series.⁵



This paper presents a novel series of potent indole *N*-oxide PDE4 inhibitors possessing in vivo activity for inhibition of TNF- α release with the general structure, **2**. Encouraging emesis results (dog model) and efficacious effects in the Streptococci cell wall (SCW) arthritis model are also presented. The compounds contain a highly effective indole isostere⁶ for the 3-methoxy 4-cyclopentoxy moiety commonly observed in many rolipram-like PDE4 inhibitors and as such represent conformationally constrained analogues of RP73401, **3**, one of the most potent PDE4 inhibitors reported to date.⁷ The *N*-oxide derivative of RP73401 reported in the

latter article maintained excellent PDE4 inhibitory activity. The following synthetic scheme was developed to access this class of indole *N*-oxide. Commercially available methyl-3-formylindole-6-carboxylate, **4**, was reduced to the corresponding methyl derivative, **5**, in good yield (70%). The indole, **5**, was alkylated with R_1Cl affording compounds with the general structure **6**. Ester hydrolysis, followed by TBTU [2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborate] activation⁸ of the newly formed carboxylic acid and coupling with 3,5-dichloroaminopyridine *N*-oxide gave the desired compounds **7** - **26**.



Scheme 1

Reagents and Conditions: (i) *p*-toluenesulfonic acid (0.15 equiv), *p*-toluenesulfonylhydrazide (1.2 equiv), sulfolane, DMF, 100 °C. Then $NaCNBH_3$, 100 °C, 2 h, 70%. (ii) NaH (2.2 equiv), R_1Cl , DMF, 0 °C, 2 h, 70–90%. (iii) LiOH (2 equiv), MeOH/ H_2O , 3/1, 70 °C, 1 h, 90%. (iv) TBTU (1.1 equiv), *N,N*-diisopropylethylamine (2 equiv), CH_2Cl_2 . Then 4-amino-3,5-dichloropyridine *N*-oxide (14 equiv), $NaAlH_2Et_2$ (6.9 equiv), toluene, 50 °C, 1 h, 40–90%.

Compounds were evaluated for PDE4 inhibition using the methods of Thompson and Schmeichen.⁹ In vivo activity was determined in a mouse endotoxemia assay measuring inhibition of LPS-induced TNF- α production (RP73401 ED_{50} 3.1 mg/kg).¹⁰ Activities of the two standards rolipram, **1** (PDE4 IC_{50} 320 nM and K_i rolipram binding 4.5 nM) and RP73401, **3** (PDE4 IC_{50} 1 nM and K_i rolipram binding 0.4 nM) were determined using these procedures. Emesis studies were performed *iv* on selected examples in the dog.¹¹ The pharmacological profiles of a series of indole *N*-oxide analogues of RP73401 are presented in Table 1. Initial PDE4 SAR is clearly analogous to that previously reported for both rolipram and RP73401, namely a preference for bulky lipophilic groups over more polar substitutions. This is exemplified by the lower PDE4 inhibitory activities of **21** (PDE4 IC_{50} 260 nM), **23** (PDE4 IC_{50} 500 nM), and **24** (PDE4 IC_{50} 420 nM). PDE4 activity was slightly improved on moving to the *N*-oxide series as seen by the activities of **8** (PDE4 IC_{50} 100 nM) vs. **9** (PDE4 IC_{50} 30 nM) and **13** (PDE4 IC_{50} 18 nM) vs. **14** (PDE4 IC_{50} 8 nM). Most encouragingly high in vivo activity for the inhibition of TNF- α production was observed for several *N*-oxides. Noteworthy, as they approach the in vivo activity of RP73401, are the cyclohexylmethyl and cyclohexylethylethyl derivatives **9** (ED_{50} 7.1 mpk) and **10** (ED_{50} 7.4 mpk), respectively, with the former showing a dramatic increase in activity over its non-oxide analogue, **8** (ED_{50} 0% at 50 mpk). A commonly observed feature of many rolipram-like PDE4 inhibitors has been an undesirable side-effect profile. Rolipram, **1**, was initially designed as an anti-depressant CNS agent and during clinical evaluation nausea and vomiting was reported.¹² Rolipram was emetic in the dog emesis model at the dose of only 0.03 mg/kg (2/2). Three *N*-oxides **9**, **10**, and **14** exhibiting high in vivo activity for TNF- α release were thus evaluated in this model and showed substantial improvement over both rolipram

and RP73401. Noteworthy is the increased selectivity these compounds possess for the catalytic binding site over the so-called rolipram binding site. The design of compounds possessing such selectivity has been proposed as one solution to address the often seen undesirable side effect profile of many PDE4 inhibitors.⁴

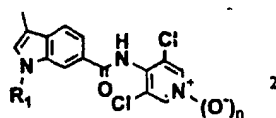


Table 1

Compd.	n	R ₁	PDE4 IC ₅₀ nM	K _i Rolipram binding nM	ED ₅₀ (mouse) TNF-α inhibition	ED ₅₀ (dog) (mg/kg) iv
1	-	-	320	4.5	8.2 ± 0.8 mpk	0.03 mg/kg 2/2
3	-	-	1	0.4	3.1 ± 0.5 mpk	0.6 mg/kg 4/4
7	1		19	38	-	-
8	0		100	120	0% @ 50 mpk	-
9	1		30	86	7.1 mpk	0.8 mg/kg 0/4
10	1		4.1	12	7.4 mpk	1 mg/kg 3/4
11	1		16	67	47% @ 10 mpk	-
12	1		20	30	8% @ 10 mpk	-
13	0		18	135	0% @ 50 mpk	-
14	1		8	60	20 mpk	3 mg/kg 0/4
15	1		24	86	40% @ 50 mpk	-
16	1		14	67	10 mpk	-
17	1		7	30	34% @ 50 mpk	-
18	1		46	135	53% @ 10 mpk	-
19	1		22	51	-	-
20	1		38	116	0% @ 10 mpk	-
21	1		260	1124	38% @ 50 mpk	-
22	1		12	71	10% @ 50 mpk	-
23	1		500	225	40% @ 50 mpk	-
24	1		420	393	38% @ 50 mpk	-
25	1		1400	3184	-	-
26	1		80	64	52% @ 50 mpk	-

A preliminary investigation into the pharmacokinetic profile of the potent inhibitors **9**¹³ and **14**, in the female, Balb/c mouse following a single iv and oral dose was therefore undertaken to assess the oral bioavailability of this class of compound.¹⁴ The pharmacokinetic parameters are shown in Table 2. Impressively, the systemic bioavailability of **9** was 96%. Post iv clearance for both compounds compared to average liver blood flow in the mouse was low, suggesting that a significant first-pass effect was unlikely and that the limiting factors for bioavailability of **14** were likely to be either absorption or metabolism in the GI tract.

Table 2

#	Dose Route	Cp max (ng mL ⁻¹)	T max (h)	AUC _{0-∞} (h ng mL ⁻¹)	Terminal t _{1/2} (h)	Cl (L h ⁻¹ kg ⁻¹)	Vdss (L kg ⁻¹)	% Bioavailability
9	iv	n/a	n/a	3256	3.6	0.3	1.7	n/a
9	oral	439	1.0	3140	2.5	n/a	n/a	96
14	iv	n/a	n/a	2016.8	5.1	0.5	0.9	n/a
14	oral	392.7	0.25	668.7	3.7	n/a	n/a	33

n/a: not applicable

Compound **9** was evaluated in the Streptococcal cell wall-induced arthritis model in the rat.¹⁵ This animal model is a model of chronic, erosive arthritis and produces a pathology similar to rheumatoid arthritis in man. Twice daily oral administration of **9** over the dose range 3 to 30 mg/kg resulted in dose-dependent inhibition of joint swelling which is an index of antiinflammatory activity (calculated ED₅₀ = 23 mg/kg). In this model RP73401 has an ED₅₀ of about 20 mg/kg.

Table 3

Treatment	Dose mg/kg (bid), po	Mean % Change Body weight days 0–4	Mean AUC + SEM of daily net joint diameters, days 0–4 ^A	% Inhibition vs AUC of Control Joints ^B
Vehicle	10 ml/kg	-5 ± 0.6	4.9 ± 0.5	-
9	3.0	-5 ± 0.7	3.7 ± 0.6	25
9	10.0	-7 ± 0.6	3.3 ± 0.6	33
9	30.0	-13 ± 0.8	1.1 ± 0.4 ^C	77

^AAUC = area under curve, SEM = standard error of the mean. ^B% inhibition versus vehicle with hyperedematous excluded. ^Cp < 0.05 vs. vehicle.

In summary, a potent series of indole *N*-oxide PDE4 inhibitors has been reported. The *N*-oxide functionality imparts oral activity for TNF- α inhibition on the indole series with several compounds possessing similar activity to RP73401. Improved emetic and pharmacokinetic profiles were also observed for compound **9** over RP73401. Equally encouragingly, results from a study of the cyclohexylmethyl derivative **9** in a SCW-induced arthritis model were also comparable with RP73401, clearly indicating disease modifying effects.

Acknowledgements: We would like to thank Dr. Sheng-Yuh Tang and Jill Dreibelbis of the mass spectrometry department. Dr. Andy Morley and Stephen Fairway are also thanked.

References and Notes

1. (a) Maini, R. N.; Elliot, M. J.; Brennan, F. M.; Feldmann, M. *Clin. Exp. Immunol.* **1995**, *101*, 207. (b) Beavo, J. A.; Conti, M.; Heaslip, R. J. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *46*, 399.
2. Williams, R. D.; Feldmann, M.; Maini, R. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, *89*, 9783.
3. For two reviews see (a) Palfreyman, M. N. *Drugs of the Future* **1995**, *20*, 793. (b) Torphy, T. J.; Livi, G. P.; Christensen, S. B. *DN & P*, **1993**, *6*, 203.
4. Christensen, S. B.; Guider, A.; Forster, C. J.; Gleason, J. G.; Bender, P. E.; Karpinski, J. M.; DeWolf, W. E.; Barnette, M. S.; Underwood, D. C.; Griswold, D. E.; Cieslinski, L. B.; Burman, M.; Bochnowicz, S.; Osborn, R. R.; Manning, C. D.; Grous, M.; Hillegas, L. M.; Bartus, J.; Ryan, M. D.; Eggleston, D. S.; Haltiwanger, R. C.; Torphy, T. J. *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 821.
5. (a) Hulme, C.; Poli, G. B.; Huang, F.-C.; Souness, J. E.; Djuric, S. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 175. (b) Hulme, C.; Moriarty, K.; Huang, F.-C.; Mason, J.; McGarry, D.; Labaudiniere, R.; Souness, J.; Djuric, S. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 399. (c) Kleinman, E. F.; Campbell, E.; Giordano, L. A.; Cohan, V. L.; Jenkinson, T. H.; Cheng, J. B.; Shirley, J. T.; Pettipher, E. R.; Salter, E. D.; Hibbs, T. A.; DiCapua, F. M.; Bordner, J. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 266. (d) Stafford, J. A.; Veal, J. M.; Feldman, P. L.; Valvano, N. L.; Baer, P. G.; Brackeen, M. F.; Brawley, E. S.; Connolly, K. M.; Domanico, P. L.; Han, B.; Rose, D. A.; Rutkowske, R. D.; Sekut, L.; Stimpson, S. A.; Strickland, A. B.; Verghese, M. W. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4972. (e) Masamune, H.; Cheng, J. B.; Cooper, K.; Egger, J. F.; Marfat, A.; Marshall, S. C.; Shirley, J. T.; Tickner, J. E.; Umland, J. P.; Vazquez, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1965. (f) Marivet, M. C.; Bourguignon, J.-J.; Lugnier, C.; Mann, A.; Stoclet, J.-C.; Wermuth, C.-G. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1450.
6. Hulme, C.; Moriarty, K.; Miller, B.; Mathew, R.; Ramanjulu, M.; Cox, P.; Souness, J.; Page, K. M.; Uhl, J.; Travis, J. Huang, F.-C.; Labaudiniere, R.; Djuric, S. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1867.
7. (a) Ashton, M. J.; Cook, D. C.; Fenton, G.; Karlsson, J.-A.; Palfreyman, M. N.; Raeburn, D.; Ratcliff, A. J.; Souness, J. E.; Thurairatnam, S.; Vicker, N. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1696. (b) A series of PDE4 inhibitors containing an indazole replacement for the 3-methoxy-4-cyclopentoxyl 'rolipram-like' motif has recently been reported: Marfat, A.; WO9742174-A1, **1997**.
8. Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W.; Gillessen, D. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927.
9. Batches of PDE IV were obtained from guinea-pig macrophages. See Turner, N. C.; Wood, L. J.; Burns, F. M.; Guerny, T.; Souness, J. E. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, *108*, 876. PDE4 IC₅₀'s were determined in macrophage homogenates via a two-step radioisotopic method. See Thompson, W. J.; Teraski, W.; Epstein, P. M.; Strada, S. J. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* **1979**, *10*, 69. K_i values were determined using [³H] rolipram in a guinea pig brain membrane binding assay. See Schmeichen, R.; Schneider, H. H.; Watchtel, H. *Psychopharmacology* **1990**, *102*, 17.

10. For TNF- α production in vivo Male, Balb/c mice (20–25 g, Harlan–Sprague Dawley, Inc., Indianapolis, IN) were used. For evaluation of test compounds, compounds were administered by oral gavage in a suspension (0.5% methylcellulose/0.2% Tween-80 vehicle) 4 h prior to challenge with lipopolysaccharide (LPS). TNF- α production was elicited by an intraperitoneal injection of LPS (*E. coli* 055:B5, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) at a dose of 30 μ g/mouse.⁷ Ninety minutes after LPS injection, mice were anesthetized with Isoflurane and blood collected by cardiac puncture. The whole blood was allowed to clot at room temperature and serum was prepared by centrifugation at 500 \times g for 10 min. TNF- α levels in the serum were measured by a mouse TNF- α ELISA (Genzyme Corp., Cambridge, MA).
11. Emesis Method: Male and female beagle dogs (8–12 kg) were used. Test compounds were dissolved in DMSO and administered by iv injection (0.3 mL) into a cephalic vein. Animals were monitored for 2 h and the number of emetic episodes was recorded.
12. Lowe, J.A.; Cheng, J. B. *Drugs of the Future* **1992**, *17*, 799.
13. For 1-Cyclohexylmethyl-3-methyl-1*H*-indole-6-carboxylic acid (3,5-dichloro-1-oxido-pyridinium-4-yl)amide, mp 127 °C (amorphous - in vivo results presented with **12** in this form) or 226–228 °C (crystalline - reduced in vivo activity observed in higher melting point form), white solid. For C₂₂H₂₃Cl₂N₃O₂ calcd C 61.12, H 5.36, N 9.72. Found C 61.06, H 5.23, N 9.59.
14. IV dosing was performed at 1 mg/kg as a solution in DMSO. Oral dosing was performed at 1 mg/kg as a suspension in 1% aq carboxymethyl cellulose/0.2% Tween 80. A minimum of three animals per time point were used, with animals being sacrificed at the appropriate time after dosing by CO₂ asphyxiation, and blood obtained by cardiac puncture.
15. Esser, R. E.; Stimpson, S. A.; Cromartie, W. J.; Schwab, J. H. *Arthritis Rheum.* **1985**, *28*, 1402.